

Союз Советских
Социалистических
Республик



Комитет по делам
изобретений и открытий
при Совете Министров
СССР

О П И С А Н И Е ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

285929

Зависимое от авт. свидетельства № —

Заявлено 23.VI.1969 (№ 1340225 23-4)

с присоединением заявки № —

Приоритет —

Опубликовано 10.XI.1970. Бюллетень № 34

Дата опубликования описания 13.I.1971

Кл. 12q, 6 01

МПК C 07c 103/52

УДК 547.964.4.07
(088.8)

Авторы изобретения Т. К. Буримова, А. А. Смирнова, М. М. Зобачева и В. В. Перекалин

Заявитель Ленинградский ордена Трудового Красного Знамени государственный педагогический институт имени А. И. Герцена

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕПТИДОВ γ -АМИНОКИСЛОТ

1

Изобретение относится к способу получения пептидов аминокарбоновых кислот γ -ряда с α - и γ -аминокислотами.

Известен способ получения пептидов γ -аминокарбоновых кислот конденсацией N-защитных аминокислот с эфирами аминокислот при охлаждении до -20°C методом смешанных ангидридов с использованием эфироз хлоругольной кислоты с последующим удалением защитных групп обычными способами. Этот способ отличается многостадийностью и сложной обработкой выделяемых продуктов.

Известно, что β -фенил- γ -аминомасляная кислота (фенилгاما) обладает психотропной активностью и относится к мягко действующим транквилизаторам. С целью пролонгирования действия β -фенил- γ -аминомасляной кислоты и улучшения проникновения через гематоэнцефалический барьер, а также синтеза биологически активных соединений предложен способ получения пептидов α - и γ -аминокарбоновых кислот заключающийся в конденсации солянокислых солей метиловых эфиров α - и γ -аминокислот с N-карбобензокеи α - и γ -аминокислотами соответственно с последующим одновременным удалением защитных групп (N-карбобензокеи и сложноеэфирной) при солянокислом гидролизе.

Первую стадию синтеза осуществляют в среде сухого пиридина в присутствии POCl_3 при

2

$-15 - 20^\circ\text{C}$ с последующим разбавлением реакционной смеси 10-кратным количеством воды.

Выход продукта конденсации достигает 90%. В литературе метод смешанных ангидридов с использованием POCl_3 был применен лишь для синтеза пептидов α -аминокислот, причем реакцию проводили в среде тетрагидрофурана в присутствии триэтиламина с последующей длительной обработкой продукта реакции.

Предлагаемый способ синтеза (реакционная среда — сухой пиридин) значительно упрощает выделение пептида.

Одновременное удаление защитных групп на второй стадии также упрощает выделение свободного пептида, общий выход которого в расчете на исходную карбобензокеинаминокислоту составляет 64%.

Пример 1. Метилкарбобензокеинглицил β -фенил- γ -аминобутират.

2.1 г (0.01 моль) карбобензокеинглицина и 2.3 г (0.01 моль) гидрохлорида метил- β -фенил- γ -аминобутирата растворяют в 40 мл (0.5 моль) сухого пиридина. Реакционную смесь охлаждают до $-15 - 20^\circ\text{C}$ и при перемешивании прибавляют по каплям 0.92 мл (0.01 моль) хлорсоединения фосфора. Затем при той же температуре перемешивают смесь еще в течение 1 час. Далее смесь выливают на 400 г льда и оставляют на 12 час в ледяной бане. Выпавший

BEST AVAILABLE COPY

осадок отфильтровывают, промывают несколько раз водой. Выход 3,43 г (80%).

Метилкарбобензоксиглицил β-фенил-γ-аминобутират — белые призмы с т. пл. 90—91°C (спирт—эфир).

Найдено, %: С 65,91, 65,89; Н 6,23, 6,20; N 7,46, 7,59.

$C_{21}H_{21}NO_5$.

Вычислено, %: С 65,62; Н 6,25; N 7,29.

Глицил-β-фенил-γ-аминобутират.

Смесь 1,5 г (0,0038 моль) метилкарбобензоксиглицил β-фенил-γ-аминобутирата и 100 мл 37%-ной соляной кислоты нагревают 1 час при 40°C. Затем раствор испаряют в вакууме ($P < 1$ мм) досуха. Добавляют к осадку воду и снова испаряют. Твердый остаток растворяют в минимальном количестве воды, добавляют диэтиламин до pH 7 и испаряют раствор досуха. Остаток кипятят с сухим метанолом (для удаления солянокислого диэтиламина), фильтруют горячий раствор, осадок промывают метанолом и сушат. Выход 0,82 г (86%).

Глицил-β-фенил-γ-аминобутират — белые игольчатые кристаллы с т. пл. 188—189°C (водный этанол).

Найдено, %: С 61,29; 61,19; Н 6,93; 6,72; N 11,78, 11,99.

$C_{12}H_{16}N_2O_3$.

Вычислено, %: С 61,01; Н 6,78; N 11,86.

Пример 2. Метилкарбобензоксид-β-фенил-γ-аминобутирил-β-фенил-γ-аминобутират.

Продукт получают аналогично примеру 1. Выход 77%. Это белые призмы с т. пл. 101—103°C (спирт—эфир).

Найдено, %: С 71,58, 71,60; Н 7,30; 7,15; N 6,34, 6,17.

$C_{29}H_{32}N_2O_5$.

Вычислено, %: С 71,31; Н 7,14; N 6,27.

β-Фенил-γ-аминобутирил-β-фенил-γ-аминобутират получают аналогично.

Выход 52%. Это бесцветные кристаллы с т. пл. 154—155°C (спирт—петролейный эфир).

Найдено, %: С 70,45, 70,70; Н 6,91, 6,90; N 8,54, 8,20.

$C_{20}H_{24}N_2O_3$.

Вычислено, %: С 7,58; Н 7,06; N 8,23.

Предмет изобретения

1. Способ получения пептидов γ-аминокислот конденсацией N-защищенной аминокислоты с эфиром аминокислоты при охлаждении до -20°C с последующим удалением защитных групп гидролизом, отличающийся тем, что, с целью упрощения процесса, конденсацию ведут в присутствии хлорокиси фосфора, а гидролиз осуществляют минеральной кислотой.
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что, гидролиз ведут концентрированной соляной кислотой при температуре 40°C в течение 1 час.

BEST AVAILABLE COPY

Составитель А. Акимова

Редактор О. С. Филиппова

Техред Л. Я. Левина

Корректор Л. Л. Евдонов

Заяв. 37964

Тираж 450

Подписано

ИЗДАТЕЛЬСТВО Комитета по делам изобретений и открытий при Совете Министров СССР
Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 15

Типография, пр. Сапунова, 2

gaining sources of carbon and nitrogen, and mineral at temperatures up to 30°C in an acid medium, is moved by using strain *Claviceps purpurea* F.I.S.40. In an example, an aqueous medium containing (in %) glucose 10, asparagine 1, KH_2PO_4 0.05, MgSO_4 0.03, 0.0007, ZnSO_4 0.0006, yeast extract 0.01 and agar 0.0007, insulated with 10% by vol. of a *Claviceps purpurea* F.I.S.40 culture. The cultivation was continued for 11 days at 24°C; the yield of ergosterol was 950 µg./ml. 5.11.68. as 1282051/31-16 1.67. - IT - 22538) MINGETTI, A. SPALLA, C., L. Societa Pharmaceutical Italia. (2.3.71) 4/6.1.71. Int. Cl. C 12d, 13/00.

IMPROVING THE IMMUNOLOGICAL PROPERTIES & NON-SPECIFIC DEFENCES OF ANIMALS

A little improvement is effected by introducing into the diet of animals, including birds, microelements, toxic action being avoided and assimilability increased if the microelements are used as solutions or as salts, e.g., of Ag, Te, Cu, Zn, Mn or as hydrates. In an example, 2 groups consisting of 5 & 6 60 day old chicks were formed, and an experiment lasting 16 days carried out. The following amounts of elements were fed per chick per day (mg): Zn 10.4, Cu 1.3, Zn 1.0, as free ions, colloids, salts, and KMnO_4 crystals 5.0. After 11 days blood checks were made, including weighings, when it was found that in group 1, 1 bird was ill from *Coli* infection, and 4 in group 2. All the other birds were in a satisfactory state at the end of 24 days. 3 of the treated chicks showed weight increases greater than the controls. 13 days later all the birds were given laryngotracheitis virus, and then observed for 14 days. Over 50% became infected. On days 14-16 the treated bird improved, but 3 in the control group died. In the last week both groups were symptom-free. This shows that the microelements increase the immunological properties and non-specific defence forces of the bird organism. 1.7.69. as 11919303/30-15 PILIPENKO, L.I. (24.12.70) 1/14.10.70. Cl. 30h, Int. Cl. A 61g, 7/02.

A, D & E FAT-SOLUBLE VITAMINS PREPN.

A nutrient, stable, finely-dispersed prep. of fat-soluble vitamins A, D, E, the filler, emulsifier and stabiliser used is prepared by drying a filtrate of vitamins after pptg. Ca citrate in the prep. Such a prep. of vitamins retains its strength well on storage for a year. The filtrate remaining after pptg. Ca citrate is concentrated to 1/5th of its original volume and then used to emulsify a fat or oil soln. of vitamins A, D & E, either separately or jointly, the emulsification being for 30 mins, 6 pts. of concentrated filtrate being used per 1 pt. of oil-sol. vitamins. The emulsion is stable and does not stratify. A high degree of dispersion is obtained, (particles down to 0.1 µm) so that the body can readily assimilate the vitamins. It is readily soluble in water, skimmed milk and liquid nutrients and can be added to farmyard and other feeds. It can also be mixed with free-flowing solid food products (bran, flour, feed milk, groats, coil cake, food yeast, etc.) or with a feed product being used per 1 pt of feed product. 18.4.69. as 1323005/30-15 NIKOLAEV, A.F., VALDMAN, A.R. et al. Vitamin Res. 1.71) Bul. 32/14.10.70. Cl. 30h, Int. Cl. A 61k

TOXICITY OF STOMATOLOGICAL MATERIALS DETMN.

The determination is carried out by placing the stomatological materials to be tested on a biological object, comparing the result with a control object, the test being accelerated, simplified, and cheapened, the reliability of the results improved, by making the objects epithelial cells of the NER-2 type,

and fibroblasts of skin-muscle tissue of human embryos. In an example, trypsinised skin-muscle tissue from human embryos is cultured in test tube and small flasks. After cell layer formation the nutrient medium is removed. On the cells are put pieces of the stomatological materials under investigation, e.g., AKR-7, controls being samples of the same culture tissue, without materials. The materials are treated with antibiotics before being placed on the cells. Daily microscopical examinations are made with the normal tissue in the control testtubes kept for 3 weeks in the case of fibroblasts of skin-muscle tissue of human embryos and 14 days for epithelial cells of the type NER-2. The culture state of the tissue is used to assess the toxicity or otherwise of the tested stomatological materials. Tests take 2-3 weeks instead of some years, test costs are cut, and the high sensitivity of the culture makes it possible to obtain better qualitative results. 30.10.69. as 1373458/31-16 SHVETSKAYA, B.D., NAPADOV, M.A., KHARCHENKO, S.V. (24.12.70) Bul. 32/14.10.70. Cl. 30h, Int. Cl. C 12k, 9/00; G 01n, 1/28.

285169 LAYERED TRANSPLANT STRENGTHENING GLUE

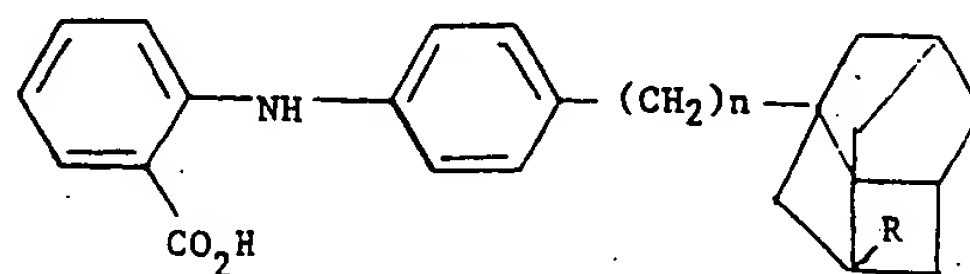
A glue for strengthening a layered transplant is based on a plasma which, to exclude turbidity and formation of clots under the transplant, contains 0.1-0.15 pts. by wt. of lyophilised plasma and 0.5 pts. by wt. of physiological salt solution. In an example, 0.1-0.15 pts. by wt. of lyophilised plasma, 0.5 pts. by wt. of physiological salt solution are triturated together in a mortar to give a homogeneous mass. After 10-20 min. the glue is used to strengthen the transplant. 1.4.69. as 1316552/31-16 GOLDFELD, N.G. (28.12.70) Bul. 33/29.10.70. Cl. 30h, Int. Cl. A 61k, 27/00.

*285929 ALPHA & GAMMA AMINOACID PEPTIDES, PSYCHOTROPIC AGENTS PREPN.

N-carbobenzoxy α or γ aminoacids are condensed with chloride salts of the methyl ester of an α or γ amino acid and a peptode is obtained by mineral acid hydrolysis of the product to remove N-carbobenzoxy and ester groups. The condensation takes place in dry pyridine at from 15 to -20°C in the presence of POCl_3 . Preferred product is β -phenyl- γ -aminobutyric acid. Products are rapid acting psychotropic agents. In an example 0.92 ms POCl_3 was added dropwise to 2.1g carbobenzoxymethylglycine and 2.3g methyl-13-phenyl- γ -aminobutyrate hydrochloride in 40 ms dry pyridine at -15°C to -20°C. After 1 hr at that temperature the mixture was poured into ice and, after standing, a residue of β -phenyl- γ -aminobutyrate was filtered off as white crystals, mp. 90-91°C, 80% yield. Hydrolysis of this at 40°C with 37% HCl gave an 86% yield of glycyl- β -phenyl- γ -aminobutyrate, mp 188-9°C. 23.6.69. as 1340225/23-4 T.K. BURIMOVA, A.A. SMIRNOVA, M.M. ZOBACHEVA et al. Leningrad A.I. Gertsen Pedagogical Inst. (13.1.71) Bul. 34/10.11.70. Cl. 12g Int. Cl. C 07c, 103/52.

287011 PHARMACEUTICAL ADAMANTYL ANTHRANILIC ACIDS

Compounds of the formula:



where R is hydrogen, hydroxyl or carboxy and n is 0 or 1 are prepared by reaction of o-chlorobenzoic acid with the appropriate p-(adamantyl) aniline derivative. Reaction may take place in boiling amyl alcohol at 130°C in the presence of metallic copper. Reaction takes about 6 hrs. Yields are 15-25%. Compounds are useful as